

Caracterização micromorfológica de *Alternaria* sp. proveniente de Solanáceas

Paulo Henrique Pereira Costa Muniz^{1*}(IC), Jessica Borges de Oliveira²(PG), Gustavo Henrique Silva Peixoto³(IC), Deziany da Silva Ferreira³(IC), Daniel Diego Costa Carvalho⁴(PQ)

¹Graduando em Agronomia e Bolsista PIBIC/CNPq, Universidade Estadual de Goiás, Ipameri. ²Pós-graduanda em Produção Vegetal, Universidade Estadual de Goiás, Ipameri. ³Graduando em Agronomia, Universidade Estadual de Goiás, Ipameri. ⁴ Professor Doutor, Universidade Estadual de Goiás, Ipameri. *paulohenrique.muniz1@gmail.com

Resumo: A correta identificação do patógeno consiste no primeiro passo para o manejo da doença, visando a garantia do estabelecimento uniforme das culturas em campo. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar o fungo *Alternaria* sp. ocorrente em órgãos vegetativos de tomate e batateira, bem como fruto/tubérculo de tomate/batata. Em inspeções fitossanitárias em propriedades rurais do município de Ipameri, Goiás, foram coletadas amostras de folhas de tomateiro e batateira, além de uma de fruto de tomate exibindo lesões de Alternariose. Para caracterização micromorfológica, foram confeccionadas lâminas semipermanentes, mediante a remoção de micélio e estruturas fúngicas encontradas sobre o tecido vegetal infectado. A espécie encontrada nos materiais de solanáceas analisados apresentou conídios com 18,4 – 54,8 x 5,8 – 18,4 µm, formato de pera invertida, com coloração marrom clara e bico de 3,2 – 17,2 µm. Estas medidas sugerem a espécie tratar-se de *A. alternata* para as três amostras analisadas.

Palavras-chave: Olericultura. Taxonomia de fungos. *Solanum lycopersicum*. *Solanum tuberosum*.

Introdução

A pinta preta, causada pelo fungo *Alternaria solani*, um importante fungo patogênico, consiste em uma das principais doenças que ocasionam danos às solanáceas (SOUZA DIAS et al., 2016). Decorrente de regiões tropicais, a doença registra consideráveis perdas de produção em diversas regiões do mundo, ocasionando decréscimos que atingem a ordem de até 60 % de tubérculos de batata (MACKENZIE, 1981; MILES et al., 2014) e em geral, apresenta até 30% de danos na produtividade total em regiões produtoras (YANAR et al., 2011). No tomate as perdas em decorrência do ataque do fungo podem atingir a ordem de 100% da produção, caso não sejam empregadas medidas de controle (TÖFOLI et al., 2015).

Boiteux e Reifschneider (1994) relataram que *A. solani* é o principal agente causal da pinta preta da batata, no Brasil. Embora, tenha sido descrito, em diversos relatos, como o fungo agente causal da pinta preta, (LEIMINGER e HAUSLADEN, 2012; WEBER e HALTERMAN, 2012; YANAR et al., 2011), outras espécies do gênero podem ser considerados agentes causais da doença, como *A.*

alternata (CWALINA-AMBROZIAK e BOGUCA, 2012), *A. grandis* (RODRIGUES et al., 2010), *A. tomatophila* e *A. cretica* (TÖFOLI et al., 2013).

De modo geral, as diferenças sintomatológicas entre as espécies do gênero *Alternaria* não são observadas, mas estas podem ser diferenciadas por meio da morfologia dos conídios (RODRIGUES et al., 2010; TÖFOLI et al., 2014; VASCONCELOS et al., 2014). No caso específico do gênero *Alternaria*, que ocorre em diversos hospedeiros, as características morfológicas mais importantes para a caracterização e a consequente identificação das espécies são as dimensões dos conídios e dos bicos dos conídios que cada uma apresenta (RODRIGUES et al., 2010; ALHUSSAEN, 2012; VASCONCELOS et al., 2014).

Neste contexto, a correta identificação do patógeno consiste no primeiro passo em direção ao posterior manejo da doença por ele causada (LIMA et al., 2004). Diante disso, em observância à grande importância que as espécies da família Solanaceae representam para a segurança alimentar mundial e pelas grandes perdas registradas por conta da ação patogênica de *Alternaria spp.*, faz-se necessária a identificação de espécies desse gênero e sua descrição observando-se caracteres micromorfológicos. Este trabalho teve como objetivo realizar a caracterização e identificação morfológica de *Alternaria sp.* provenientes da parte vegetativa e/ou fruto/tubérculo de tomate e/ou batata.

Material e Métodos

Levantamento de ocorrência de Alternariose em campo

Em inspeções de campo, durante os meses de novembro de 2016 e maio de 2017, foram realizadas avaliações fitossanitárias em propriedades agrícolas do município de Ipameri e região (Tabela 1), englobando os quadros sintomatológicos, aspectos epidemiológicos e edafoclimáticos nas culturas do tomateiro e batateira. Adicionalmente, frutos de tomateiro e tubérculos de batata, obtidos do comércio local também foram inspecionados. Em seguida, os materiais foram coletados para exame no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual de Goiás (UEG), Câmpus Ipameri. As lesões de tecidos vegetais atacados foram examinadas em estereomicroscópio, fotografadas e as que apresentaram micélio em abundância foram empregadas para confecção de lâminas microscópicas semipermanentes.

Caracterização micromorfológica

Para caracterização morfológica e confirmação do gênero fúngico incidente no material, foram confeccionadas lâminas semipermanentes para observações microscópicas, contendo o material biológico removido diretamente do tecido vegetal infectado e utilizando ácido láctico como meio de montagem para as lâminas (LIMA et al., 2004). A caracterização morfológica foi baseada nas seguintes características: comprimento e largura dos conídios e, comprimento do bico dos conídios. Para tanto, foi realizado o registro de imagens e mensuração dos conídios e suas estruturas, pela obtenção de 30 medidas de cada componente (VASCONCELOS et al., 2014), no microscópio de luz Leica DM500, com auxílio do programa LAS EZ 2.0 (100x). As preparações microscópicas foram depositadas no Laminário Fitopatológico da UEG.

Análises Estatísticas

Os resultados relativos às medidas das estruturas do fungo foram submetidos à análise de variância, com auxílio do programa SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011).

Resultados e Discussão

Após as inspeções, caracterização de sintomas e confecção de lâminas, três materiais foram obtidos para análise: B-01-01 (conídios de *Alternaria* spp. ocorrente em *S. tuberosum*/folhas), J-01-01 (ocorrente em *S. lycopersicum*/folhas) e J-01-03 (ocorrente em *S. lycopersicum*/fruto) (Tabela 1). O fungo *Alternaria* não foi encontrado em tubérculos de batata coletados no comércio local de Ipameri (17°43'18.26"S, 48°09'40.61"W, 766 m, data de coleta: 25/05/2017). Os conídios obtidos do material B-01-01 apresentou dimensões de 25,3 – 54,8 x 6,1 - 18,4 µm (38,3 x 12,3 µm) e bico de 5,0 - 17,2 µm (8,8 µm). Após a mensuração dos conídios do material J-01-01, obtido de folhas de tomateiro cv. Santa Cruz Kada lesionadas, verificou-se que estes possuíam dimensões de 20,5 - 31,0 x 6,4 - 12,3 µm (25,5 x 9,0 µm) e bico do conídio 3,2 - 6,9 µm (4,9 µm). Para J-01-03, as medidas de 18,4 – 34,5 x 5,8 – 13,0 µm (25,3 x 8,1 µm) e bico de 3,6 – 11,6 µm (6,0 µm). Os conídios de todos os materiais analisados apresentaram coloração marrom clara, em forma de clava ou pera invertida (Figura 1). Além disso, o bico dos conídios de B-01-01, J-

01-01e J-01-03 foi considerado como de tamanho curto, com comprimento inferior a um terço do corpo do conídio. Os coeficientes de variação para comprimento, largura e bico dos conídios dos materiais variaram entre 10,95 a 19,34%, 19,11 a 22,83% e, 19,41 a 34,76%, respectivamente, para todos os materiais.

Tabela 1. Características micromorfológicas de conídios de *Alternaria* spp. ocorrente em folhas e fruto de tomateiro, e folhas de batateira. Ipameri, Goiás, 2017.

Código do material analisado	Hospedeiro/ Órgão da planta	Conídio (µm)		Bico do conídio (µm)
		Comprimento	Largura	Comprimento
B-01-01	<i>S. tuberosum</i> /folhas ¹	25,3 – 54,8	6,1 – 18,4	5,0 – 17,2
J-01-01	<i>S. lycopersicum</i> /folhas ²	20,5 – 31,0	6,4 – 12,3	3,2 – 6,9
J-01-03	<i>S. lycopersicum</i> /fruto ³	18,4 – 34,5	5,8 – 13,0	3,6 – 11,6

¹cv. 'Asterix' (17°43'00.38"S, 48°08'40.96"W, 796 m), data de coleta: 01/11/2016.

²cv. 'Santa Cruz Kada' (17°40'18.48"S, 47°44'57.22"W, 905 m), data de coleta: 02/11/2016.

³cv. 'Débora' (17°43'18.26"S, 48°09'40.61"W, 766 m), data de coleta: 25/05/2017.

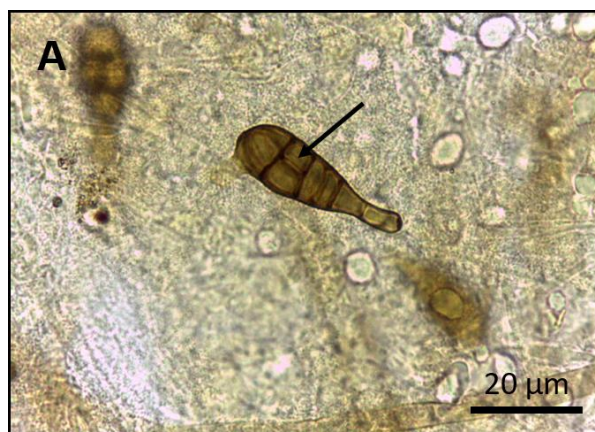


Figura 1. Conídios de *Alternaria alternata* provenientes de solanáceas. A) conídio de B-01-01 de coloração marrom clara, em forma de clava ou pera invertida ovoides ou elipsoides, a seta mostra os septos longitudinais e transversais. B) conídio de J-01-01, a seta mostra o bico curto, com comprimento inferior a um terço do corpo do conídio. 100 x. Ipameri, Goiás, 2017.

Adicionalmente, para as comparações e determinações à nível de espécie, foram utilizadas as características morfológicas de outras espécies do gênero *Alternaria* ocorrentes nas solanáceas e *A. alternata* ocorrentes em hospedeiros diferentes (Tabela 2).

Tabela 2. Características morfológicas de diferentes espécies do gênero *Alternaria*, em diferentes hospedeiros.

Espécie de <i>Alternaria</i>	Hospedeiro / órgão da planta	Tamanho do conídio (µm)		Tamanho do bico (µm)
		Comprimento	Largura	Comprimento
<i>A. grandis</i> ⁽¹⁾	<i>S. tuberosum</i> / folha	102,0 – 184,0	14,0 – 17,0	135,0 – 206,0
<i>A. grandis</i> ⁽²⁾	<i>S. lycopersicum</i> / folha	140,9 – 158,7	15,1 – 17,7	120,0
<i>A. solani</i> ⁽³⁾	<i>S. tuberosum</i> / folha	82,5 – 105,0	16,7 – 20,5	60,0 – 84,7
<i>A. solani</i> ⁽⁴⁾	<i>S. lycopersicum</i> / fruto	115,2 – 159,5	15,0 – 17,9	47,0 – 86,0
<i>A. tomatophila</i> ⁽¹⁾	<i>S. lycopersicum</i> / folha	70,0 – 99,0	12,0 – 20,0	99,0 – 197,0
<i>A. alternata</i> ⁽⁵⁾	<i>S. tuberosum</i> / folha	20,0 – 60,0	9,0 – 18,0	*
<i>A. alternata</i> ⁽⁶⁾	<i>S. tuberosum</i> / tubérc.	19,7 – 45,4	8,5 – 18,0	2,6 – 11,9
<i>A. alternata</i> ⁽⁷⁾	<i>S. lycopersicum</i> / fruto	18,0 – 55,0	7,0 – 20,0	5,0 – 40,0

⁽¹⁾RODRIGUES et al., (2010); ⁽²⁾BESSADAT et al., (2016); ⁽³⁾ZHENG et al., (2015); ⁽⁴⁾BESSADAT et al., (2017); ⁽⁵⁾VAN DER WAALS et al., (2011); ⁽⁶⁾VASCONCELOS et al., (2014); ⁽⁷⁾GROGAN et al., (1975).

A espécie encontrada nos materiais de solanáceas analisados (B-01-01, J-01-01 e J-01-03) apresentou conídios com 18,4 – 54,8 x 5,8 – 18,4 µm e bico de 3,2 – 17,2 µm. Estas medidas sugerem a espécie tratar-se de *A. alternata*, uma vez que, em conformidade com a Tabela 2, as medições para *A. alternata* é verificada entre 18,0 – 60,0 x 7,0 – 20,0 µm e bico com 2,6 – 40,0 µm (GROGAN et al., 1975; VAN DER WALLS et al., 2011; VASCONCELOS et al., 2014).

De forma oposta, os resultados das dimensões dos conídios de *A. grandis* (102,0 – 184,0 x 14,0 – 17,7 µm) e dos bicos dos conídios (120,0 – 206,0 µm) verificados por RODRIGUES et al. (2010) e BESSADAT et al., (2016), em folhas de batata e tomateiro, respectivamente, são muito diferentes das medições reportadas para *A. alternata*, especialmente com respeito ao comprimento dos conídios, bem como ao bico dos conídios. De forma análoga, embora a espécie *A. solani* seja considerada o principal agente causal da pinta preta nas solanáceas, possuindo similaridades, em relação à forma e coloração dos conídios, sua ocorrência pode ser refutada, uma vez que os conídios dessa espécie possuem maior comprimento, isto é, 82,5 – 159,5 µm, possuindo bicos do conídio também muito maiores 47,0 – 86,0 µm (ZHENG et al., 2015; BESSADAT et al., 2017).

A hipótese de a espécie a que pertence os materiais ser *A. tomatophila* também pode ser refutada. Embora seja reportada a ocorrência dessas espécies em folha de *S. lycopersicum* (RODRIGUES et al., 2010), o comprimento dos conídios de *A. tomatophila* (70,0 – 99,0 µm), bem como o tamanho dos bicos dos conídios (99,0

– 197,0 μm) são muito grandes quando comparados com as medidas expostas na Tabela 1.

Töfoli et al. (2013) já afirmaram que os bicos dos conídios de *A. alternata* são pequenos o suficiente, a ponto de seu comprimento ser inferior a um terço do comprimento do corpo do conídio (Figura 1B), fato que não ocorre para *A. solani* e *A. grandis* e *A. tomatophila* ocorrentes em *S. tuberosum* e *S. lycopersicum*.

Durante a análise estatística das dimensões dos conídios de *A. alternata*, atenção foi dada à variabilidade das medidas obtidas. Assim, verificou-se que os coeficientes de variação, para o comprimento e largura dos conídios foram elevados, diferentemente de *A. alternata* f. sp. *citri* cuja variabilidade dos dados referentes às medidas de todas as estruturas do fungo não passou de 5,1% (CARVALHO et al., 2008). Estes valores sugerem que os conídios obtidos diretamente do tecido vegetal do hospedeiro, tendem a ser mais variáveis, possivelmente devido a variações ambientais inexistentes no cultivo *in vitro* (VASCONCELOS et al., 2014).

Considerações Finais

Baseando-se nas características micromorfológicas dos conídios analisados, no presente trabalho, verificou-se tratar-se da ocorrência de *A. alternata* em folhas de tomateiro cv. 'Santa Cruz Kada', em fruto de tomateiro cv. 'Débora' e em folhas de batateira cv. 'Asterix'.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por uma bolsa de iniciação científica concedida e ao Programa de Bolsa de Incentivo à Pesquisa e Produção Científica (PROBIP) da Universidade Estadual de Goiás (UEG) por uma bolsa de incentivo à pesquisa.

Referências

ALHUSSAEN, K.M. Morphological and physiological characterization of *Alternaria solani* isolated from tomato in Jordan Valley. **Research Journal of Biological Sciences**, Karaman, v.7, n.8, p.316-319, 2012.

BESSADAT, N.; HAMON, B.; HENNI, D.E.; SIMONEAU, P. First report of tomato early blight caused by *Alternaria grandis* in Algeria. **Plant disease**, Saint Paul, v.100, n.2, p.533, 2016.

BESSADAT, N.; HAMON, B.; HENNI, D.E.; SIMONEAU, P. *Alternaria* species associated with early blight epidemics on tomato and other Solanaceae crops in northwestern Algeria. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.148, n.1, p.181-197, 2017.

BOITEUX, L.S.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. Potato early blight caused by *Alternaria alternata* in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v.78, n.1, p.101, 1994.

CARVALHO, D.D.C.; ALVES, E.; BATISTA, T.R.S.; CAMARGOS, R.B.; LOPES, E.A.G.L. Comparison of methodologies for conidia production by *Alternaria alternata* from citrus. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.39, n.4, p.792-798, 2008.

CWALINA-AMBROZIAK, B.; BOGUCKA, B. Severity of late blight (*Phytophthora infestans*/Mont./de Bary) and early blight of potato (*Alternaria solani* Sorauer, A. *alternata*/Fr./Keissler) in three potato cultivars under differentiated soil and foliar fertilization. **Journal of Elementology**, Olsztyń, v.17, n.3, p.379-388, 2012.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.

GROGAN, R.G.; KIMBLE, K.A.; MISAGHI, I. A stem canker of tomato caused by *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.65, n.1, p.880-886, 1975.

LEIMINGER, J.H.; HAUSLADEN, H. Early blight control in potato using disease-orientated threshold values. **Plant Disease**, Saint Paul, v.96, n.1, p.124-130, 2012.

LIMA, C.S.; SOUZA, P.E.; BOTELHO, A.O. Rust fungi of the Pucciniaceae family on medicinal plants. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.5, p. 99-503, 2004.

MACKENZIE, D.R. Association of potato early blight, nitrogen fertilizer rate, and potato yield. **Plant Disease**, Saint Paul, v.65, n.7, p.575-577, 1981.

MILES, T.D.; MILES, L.A.; FAIRCHILD, K.L.; WHARTON, P.S. Screening and characterization of resistance to succinate de hydrogenase inhibitors in *Alternaria solani*. **Plant Pathology**, London, v.63, n.1, p.155-164, 2014.

RODRIGUES, T.T.M.S.; BERBEE, M.L.; SIMMONS, E.G.; CARDOSO, C.R.; REIS, A.; MAFFIA, L.A.; MIZUBUTI, E.S.G. First report of *Alternaria tomatophila* and *A. grandis* causing early blight on tomato and potato in Brazil. **New Disease Reports**, Wellesbourne, v. 22, n.1, p. 28, 2010.

SOUZA DIAS, J.A.C.; IAMATI, M.T.; FISCHER, I.H. Doenças da batateira. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 5 ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, v.2, 2016, p.125-148.

TÖFOLI, J.G.; MELO, P.C.T.; DOMINGUES, R.J.; FERRARI, J.T. Potato late blight and early blight: importancy, characteristics and sustainable management. **Biológico**, São Paulo, v.75, n.1, p.33-40, 2013.

TÖFOLI, J.G.; MELO, P.C.T.; DOMINGUES, R.J.; FERRARI, J.T. Requeima e Mancha de *Alternaria* nas culturas da batata e tomate. **Biológico**, São Paulo, v.76, n.1, p.41-50, 2014.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J.; FERRARI, J.T. *Alternaria* spp. In Oleraceous: Symptoms, Etiology, Management and Fungicides. **Biológico**, São Paulo, v.77, n.1, p.21-34, 2015.

VAN DER WAALS, J. E.; PITSI, B.E.; MARAIS, C.; WAIRURI, C.K.; First report of *Alternaria alternata* causing leaf blight of potatoes in South Africa. **Plant Disease**, Saint Paul, v.95, n.3, p.363, 2011.

VASCONCELOS, C.V.; SILVA, D.C.; CARVALHO, D.D.C. Ocorrência de *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl. em tubérculos de batata, no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.44, n.2, p.219-222, 2014.

YANAR, Y.; GÖKÇE, A.; KADIOGLU, I.; ÇAM, H.; WHALON, M. *In vitro* antifungal evaluation of various plant extracts against early blight disease (*Alternaria solani*) of potato. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.10, n.42, p.8291-8295, 2011.

WEBER, B.; HALTERMAN, D.A. Analysis of genetic and pathogenic variation of *Alternaria solani* from a potato production region. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.134, n.4, p.847-858, 2012.

ZHENG, H.H.; ZHAO, J.; WANG, T.Y.; WU, X.H. Characterization of *Alternaria* species associated with potato foliar diseases in China. **Plant Pathology**, London, v.64, n.2, p.425-433, 2015.